DiaSorin
DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com

CE

Modificaciones: § 4, 10, 11
Supresiones: § 10

LIAISON® FT4 (REF 311611)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

Ensayo *in vitro* para la determinación cuantitativa de tiroxina libre (FT4) en suero y plasma humanos. El ensayo debe realizarse en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer.

2. RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La glándula tiroidea libera tiroxina (T4) al torrente sanguíneo, donde más del 99,9% de la hormona queda enlazado a proteínas de transporte (1, 3). Sin embargo, únicamente la fracción libre de T4 (FT4) es fisiológicamente activa (2, 6).
La FT4 induce la estimulación metabólica y actúa como realimentación de control del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. A diferencia de lo que ocurre con la T4 total, la medición de la FT4 es independiente de las proteínas transportadoras (TBG, TBPA, albúmina). Por tanto, debido a su mayor sensibilidad y especificidad para los trastornos tiroideos, siempre debe determinarse la FT4 en pacientes con anomalías de las proteínas transportadoras (4).
Entre las anomalías de las proteínas transportadoras figuran las siguientes (7):

- congénitas, como hipertiroxinemia disalbuminémica familiar (síndrome FDH), hipertiroxinemia asociada a la prealbúmina o deficiencia congénita de TBG
- fisiológicas, como embarazo, puerperio (5)
- farmacológicas, como anticonceptivos, salicilatos, heparina
- debidas a enfermedades graves (NTI = no tiroideas subyacentes), como insuficiencia renal crónica, infarto de miocardio, hepatitis aguda, cirrosis hepática, anorexia nerviosa, infecciones graves, estados posquirúrgicos y postraumáticos

La T4 libre permite distinguir clínicamente las hipertiroxinemias eutiroideas del hipertiroidismo y las hipotiroxinemias eutiroideas del hipotiroidismo.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El método para la determinación cuantitativa de FT4 está basado en el principio SPALT (técnica de luminiscencia con antígenos en fase sólida).
Las partículas magnéticas (fase sólida) están recubiertas con un conjugado de proteína T4; un anticuerpo monoclonal está enlazado a un derivado de isoluminol (conjugado de isoluminol-anticuerpo).
Durante la incubación, la FT4 compite con el conjugado de proteína T4 por los sitios de unión del anticuerpo marcado.
Después de la incubación, se elimina el material no unido mediante un ciclo de lavado.
A continuación, se añaden los reactivos starter que inducen una reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado de anticuerpo-isoluminol, se mide con un fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU, relative light units) e indica la concentración de FT4 presente en los calibradores, en las muestras o en los controles.

4. MATERIALES SUMINISTRADOS

El orden de los reactivos refleja el orden con el que se han ensamblado los contenedores en el integral de reactivos.

Integral de reactivos para 100 determinaciones			
2,3	mL	SORB	Fase sólida: contiene partículas magnéticas recubiertas con conjugado de proteína T4 (conejo) y azida sódica al 0,09%.
1,0	mL	CAL 1	Calibrador 1, bajo: contiene suero humano enriquecido con antígeno T4 y azida sódica al 0,09%.
1,0	mL	CAL 2	Calibrador 2, alto: contiene suero humano enriquecido con antígeno T4 y azida sódica al 0,09%.
23,0	mL	CONJ	Conjugado: contiene anticuerpo anti-T4 monoclonal (murino) marcado con isoluminol y azida sódica al 0,09%.

Todos los reactivos se suministran listos para usar.

Materiales requeridos, pero no suministrados (relacionados con el sistema)

LIAISON® XL Analyzer	**LIAISON® Analyzer**
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102) o LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check (REF 319101)

Otros materiales requeridos

LIAISON® Control Thyroid 1 (REF 389219)
LIAISON® Control Thyroid 2 (REF 389229)
LIAISON® Control Thyroid 3 (REF 389239)

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.
Todos los materiales de origen humano utilizados para la fabricación de los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivos para la presencia de HBsAg, anti-VHC, anti-VIH-1 y anti-VIH-2. Sin embargo, puesto que ningún método de análisis puede asegurar la ausencia de agentes patógenos, todo el material de origen humano deberá considerarse potencialmente infeccioso y manipularse como tal.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume ni se maquille en el laboratorio donde se realiza el ensayo.
No pipetee las soluciones con la boca.
Evite el contacto directo con todos los materiales potencialmente infecciosos utilizando prendas protectoras, como batas de laboratorio, gafas protectoras y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.
Evite las salpicaduras o la formación de aerosoles. El reactivo vertido debe limpiarse con una solución de hipoclorito sódico al 5%, y eliminarse como si se tratase de material potencialmente infeccioso.
Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales usados en el ensayo deben considerarse posibles transmisores de agentes infecciosos. Por consiguiente, deben eliminarse de conformidad con las disposiciones y normas generales establecidas por las autoridades con jurisdicción sobre el laboratorio y con las leyes vigentes en cada país.

7. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

7.1. Integral de reactivos

Para manipular los reactivos es preciso adoptar una serie de precauciones importantes:

Resuspensión de las partículas magnéticas
Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Realice los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:
Antes de quitar el precinto, gire la rueda pequeña del compartimento de partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte un color marrón. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para facilitar la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del vial de partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Si es necesario, repita el procedimiento hasta que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas. Después de quitar el precinto, seque con sumo cuidado la superficie de cada pared para eliminar el líquido residual si fuera necesario.

Formación de espuma en los reactivos
Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Respete las recomendaciones siguientes:
Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos, especialmente los calibradores (situados en la segunda y tercera posición del integral, después del vial de partículas magnéticas), para excluir la presencia de espuma. Si se observa la presencia de espuma tras la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. El integral está listo para el uso una vez que se ha disuelto la espuma, que ha permanecido en el instrumento y que se ha agitado.

Instalación del integral en el área de reactivos
LIAISON® Analyzer
Coloque el integral de reactivos en el área de reactivos del analizador con la etiqueta de los códigos de barras orientada a la izquierda y espere 30 minutos antes de usarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.
LIAISON® XL Analyzer
El LIAISON® XL Analyzer incorpora un dispositivo magnético de fase sólida que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de reactivos del analizador. Consulte los detalles en el manual del usuario del analizador.
Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.
Deje el integral de reactivos en el dispositivo magnético de estado sólido durante al menos 30 segundos (varios minutos como máximo). Si es necesario, repita la operación.
Coloque el integral en el área de reactivos del analizador con la etiqueta orientada a la izquierda y espere 15 minutos antes de utilizarlo. Las partículas magnéticas se agitan automáticamente y se resuspenden por completo en el analizador.
Consulte el manual del usuario del analizador para introducir las muestras y comenzar el ensayo.

7.2. Controles

Para preparar y manipular los controles de forma correcta, consulte las instrucciones del set LIAISON® Control Thyroid 1 / LIAISON® Control Thyroid 2 / LIAISON® Control Thyroid 3.

8. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

8.1. Integral de reactivos

Sellado: Estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad.
Abierto en el instrumento o a 2-8 °C: Estabilidad 2 semanas (consulte § 12).
Si los controles permanecen dentro de los rangos previstos, se puede seguir usando el integral después de este intervalo de tiempo.
Use siempre el mismo LIAISON® Analyzer con un integral de reactivos ya abierto.
Mantenga el integral de reactivos en posición vertical durante la conservación para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas.
Use las gradillas suministradas con la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer para mantener el integral de reactivos en posición vertical.
Evite su exposición a luz directa.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Tome las muestras mediante los procedimientos habituales.
Material de las muestras: suero, plasma.
Si la prueba no se realiza el mismo día de la recogida de la muestra, el suero/plasma debe separarse del sedimento y conservarse en un tubo diferente.
Conservación a 2-8 °C: 48 h
Para periodos de almacenamiento más prolongados: congelar por debajo de -20 °C
Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.
Las muestras almacenadas deben agitarse bien antes de su uso (agitador Vortex).
No use muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que presenten partículas o evidente contaminación microbiana.
No use muestras coaguladas.
El volumen mínimo de muestra necesario para una determinación es 200 µL (50 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

El análisis de los calibradores específicos del ensayo permite ajustar los valores RLU detectados a la curva maestra asignada. Es posible realizar un máximo de 6 calibraciones (en total).
La recalibración debe realizarse por triplicado cada vez que se verifique al menos una de las siguientes condiciones:

- Se usa un nuevo lote de integral de reactivos o de reactivos starter.
- La calibración anterior se realizó hace más de 14 días.
- El analizador se ha sometido a una intervención de asistencia técnica.
- Los valores de los controles están fuera de los rangos esperados.

LIAISON® Analyzer: los valores del calibrador están almacenados en los códigos de barras de la etiqueta del integral.
LIAISON® XL Analyzer: los valores del calibrador están almacenados en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID).

11. PROCEDIMIENTO OPERATIVO

Para obtener unos resultados analíticos correctos hay que respetar estrictamente las instrucciones del manual del usuario del analizador.
LIAISON® Analyzer: cada parámetro del ensayo se identifica mediante el código de barras de la etiqueta del integral de reactivos. Si la etiqueta del código de barras no se puede leer, el cartucho no se debe utilizar y se tiene que tirar. Consulte el manual del usuario del analizador para obtener información detallada.
LIAISON® XL Analyzer: cada parámetro del ensayo se identifica mediante la información codificada en la etiqueta de identificación por radiofrecuencia (RFID) del integral de reactivos. Si la etiqueta RFID no se puede leer, el cartucho no se debe utilizar y se tiene que tirar. Para obtener información detallada, consulte el manual del usuario del analizador.

El LIAISON® Analyzer realiza las operaciones siguientes:

1. Dispensa la muestra, el calibrador o los controles en el módulo de reacción.
2. Dispensa las partículas magnéticas revestidas (fase sólida) y el conjugado.
3. Incuba.
4. Lava con líquido de lavado/líquido del sistema.
5. Añade el reactivo starter y mide la luz emitida.

El LIAISON® XL Analyzer realiza las operaciones siguientes:

1. Dispensa la muestra, el calibrador o los controles en la cubeta de reacción.
2. Dispensa las partículas magnéticas revestidas (fase sólida) y el conjugado.
3. Incuba.
4. Lava con líquido de lavado/líquido del sistema.
5. Añade el reactivo starter y mide la luz emitida.

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles LIAISON® deben analizarse individualmente para determinar la eficacia del ensayo. El control de calidad puede efectuarse analizando los sueros de control LIAISON® o controles comerciales específicos:

- por lo menos una vez por cada día de trabajo,
- cuando se usa un nuevo integral de reactivos,
- cuando se calibra el kit,
- cuando se usa un nuevo lote de reactivos starter,
- cuando se determina la adecuación de las prestaciones del integral de reactivos abierto con más de 2 semanas de anterioridad,
- o según las normas o los requisitos establecidos en los reglamentos locales o por entidades autorizadas.

Los valores de los controles deben permanecer dentro de los rangos previstos. Cada vez que el valor de uno de los controles no coincida con el rango esperado, habrá que repetir la calibración y analizar de nuevo los controles. Si los valores de los controles siguen estando fuera de rango tras una calibración satisfactoria, será preciso repetir el ensayo usando un vial de control sin abrir. Los resultados de los pacientes no deben notificarse si los valores de control están fuera del rango previsto.
Antes de utilizar otros controles es preciso evaluar su compatibilidad con este ensayo. Es indispensable establecer intervalos de valores adecuados para los materiales empleados en el control de calidad.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El analizador calcula automáticamente las concentraciones de FT4 de las muestras y las expresa en ng/dL. Consulte el manual del usuario del analizador para obtener información detallada.
Aunque los calibradores y los controles pueden generar resultados de RLU o dosis distintos en LIAISON® y LIAISON® XL, los resultados de los pacientes son equivalentes.

13.1. Estandarización
El ensayo se ha calibrado mediante diálisis simétrica.

13.2. Intervalo de ensayo
LIAISON® FT4 mide concentraciones de hasta 10 ng/dL.

Factor de conversión:

1	pmol/L	x	0,078	=	1	ng/dL
1	ng/dL	x	12,870	=	1	pmol/L

13.3. Rango de referencia (evaluado en suero)

Rango normal (percentil 1-99):	0,8 – 1,7	ng/dL	(10,29 – 21,88 pmol/L)

Este rango se evaluó en 517 individuos sin enfermedad tiroidea aparente.
Cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia, ya que pueden existir diferencias regionales.

14. LIMITACIONES DEL ENSAYO
Los reactivos deben usarse solamente en la serie de instrumentos LIAISON® Analyzer.
Los componentes individuales del integral de reactivos no deben separarse del integral.
El kit no debe usarse después de la fecha de caducidad que figura en la etiqueta externa.
Para obtener resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a las instrucciones y poseer una adecuada técnica manual.
La contaminación bacteriana de las muestras o la inactivación mediante calentamiento pueden modificar los resultados de la prueba.
En condiciones eutiroideas, los niveles de T4 y de proteína transportadora aparecen disminuidos o elevados simultáneamente, mientras que la tiroxina libre se encuentra dentro del rango normal. El hipotiroidismo, en cambio, siempre está asociado a valores disminuidos de la tiroxina libre, mientras que en el caso del hipertiroidismo ocurre lo contrario. En estas enfermedades, las anomalías de las proteínas transportadoras pueden deberse a cambios en las concentraciones de TBG, TBPA y TBA o a alteraciones en la afinidad de unión de dichas proteínas. Por lo tanto, los hallazgos clínicos siempre deben tener en cuenta todas las alteraciones fisiológicas, patológicas o farmacológicas en las condiciones y capacidades de unión de estas proteínas.
Los niveles de FT4 en suero no demuestran por sí solos la presencia o ausencia de enfermedad tiroidea. Siempre deben interpretarse en el contexto del cuadro clínico y en combinación con otros procedimientos diagnósticos. Cada decisión terapéutica debe ser tomada caso por caso.
Aunque se añadan agentes capaces de neutralizar los anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA), las concentraciones de HAMA extremadamente elevadas podrían influir en los resultados del ensayo.
Los integrales no se deben intercambiar entre diferentes tipos de analizadores (LIAISON® y LIAISON® XL). Después de introducir un integral en un tipo de analizador determinado, deberá usarse siempre en él hasta que se haya acabado. Por motivos de trazabilidad relacionados con lo antes expuesto, es necesario terminar el seguimiento de los pacientes con el mismo tipo de analizador. En los seguimientos debe utilizarse un único tipo de analizador (LIAISON® o LIAISON® XL).

15. PRESTACIONES METODOLÓGICAS DEL KIT

15.1. Especificidad analítica
La especificidad analítica se define como la capacidad del ensayo para detectar analitos específicos en presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, hemólisis, lipemia, bilirrubinemia).

15.2. Interferencia
Estudios controlados de factores potencialmente interferentes han demostrado que la eficacia del ensayo no depende de las concentraciones de bilirrubina < 0,125 mg/mL, de hemoglobina < 1000 mg/dL o de triglicéridos < 30 mg/mL.

15.3. Reacciones cruzadas
Reactividades cruzadas del anticuerpo anti-tiroxina empleado:

L-tirosina		0%
L-T3	<	2%
D-T3	<	2%

15.4. Interferencias con fármacos
No se han encontrado reactividades cruzadas con ácido acetilsalicílico, ácido salicílico, fenilbutazona, difenilhidantoína, amiodarona, ANS, furosemida ni DL-propranolol en dosis terapéuticas.

15.5. Precisión con LIAISON® Analyzer
Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se utilizaron muestras con diferentes concentraciones de FT4.

Variación intra-ensayo			Variación inter-ensayo		
Valor medio (ng/dL)	CV (%)	n*	Valor medio (ng/dL)	CV (%)	n*
0,39	2,4	20	0,48	4,8	23
0,90	1,6	20	0,90	3,7	31
1,47	1,1	20	1,53	2,9	32
3,00	2,4	20	3,02	3,3	31
6,36	2,0	20	6,36	3,2	30

* número de determinaciones

15.6. Precisión con LIAISON® XL Analyzer

Para determinar la repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) se utilizaron muestras con diferentes concentraciones de FT4.

Variación intra-ensayo			Variación inter-ensayo		
Valor medio (ng/dL)	CV (%)	n*	Valor medio (ng/dL)	CV (%)	n*
0,33	3,3	20	0,35	4,4	20
0,89	2,0	20	1,01	2,9	20
2,22	2,0	20	3,09	2,5	20
7,24	2,1	20	8,13	2,0	20

* número de determinaciones

15.7. Veracidad

La precisión de este ensayo se ha demostrado en diferentes correlaciones con kits radiactivos y no radiactivos, en medidas tanto externas como internas.

15.8. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se define como la dosis mínima detectable que puede distinguirse de cero con 2 desviaciones estándar.

	Sensibilidad analítica
Serie de instrumentos LIAISON® Analyzer	0,1 ng/dL